



TITLE:

Studies on dynamics of functionalized lipid bilayers(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Shimobayashi, Shunsuke

CITATION:

Shimobayashi, Shunsuke. Studies on dynamics of functionalized lipid bilayers. 京都大学, 2016, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19478>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により本文は2018-08-01に公開

(続紙 1)

京都大学	博 士 (理 学)	氏名	下林俊典
論文題目	Studies on dynamics of functionalized lipid bilayers (機能化された脂質二重膜小胞の動力学に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>本学位論文は“生命とは何か”という問いに対して、生命を構成する柔らかい物質の物性理解を切り口として物理学の立場から明らかにしようとしている。細胞内で普遍的に存在する膜構造を単純化した脂質二重膜小胞は、生体膜のモデル系としてこれまでに盛んにその物性が研究されてきた。しかし、細胞膜は多くの機能を有しているにもかかわらず、生物学的機能を有した脂質二重膜小胞の物理は未解決課題となっている。本学位論文は、ゲスト分子によって脂質二重膜小胞を機能化する事により、その背後に在る物理学を明らかにする事を目指している。第1章では、研究の動機並びに論文の概要について述べ、第2章では後の章で議論する膜の物理学と相分離の物理学について、その理論的基礎について記述している。</p> <p>第3章では、まず第1節にて生体膜から抽出された糖脂質GM1を外部から添加することにより、多成分脂質二重膜小胞に相分離形状の転移を誘起している。その際のマクロ-ミクロ相分離の転移ダイナミクスを、共焦点顕微鏡を用いた観察によって明らかにしている。次に第2節にてその転移ダイナミクスを弾性膜と膜内相分離を記述する時間依存型ギンツブルグーランダウ方程式を数值的に解く事により調べている。結果、この転移現象は外膜に挿入された糖脂質GM1によって誘起される局所的な自発曲率によって駆動されていると結論付けている。更に第3節にて、第2節の数値計算で想定した仮定の妥当性を検証する為に、挿入された糖脂質GM1が膜弾性に与える影響を膜揺らぎの解析により定量的に測定し、仮定が妥当であると結論付けている。第4節において、脂質組成の非対称度と転移後のミクロドメインサイズの負相関を実験並びに数値計算から調べている。実験と数値計算双方において予測通りの負相関を確認し、膜内に挿入された糖脂質GM1の量と転移後のミクロドメインサイズの間に非自明な冪乗則がある事を報告している。</p> <p>第4章では、化学合成された相補的な短鎖DNAを用いて脂質二重膜の機能化を行っている。その選択的結合能を利用する事で、ガラス基板上の平坦膜と脂質二重膜小胞を接着し、小胞が持つ物理量の温度応答性を調べている。接着の接触角が温度増加に対してリエントラントな振る舞いをする事を顕微鏡観察から明らかにし、膜弾性と膜内を拡散するDNAの自由エネルギーを結合する理論モデルと実験結果の整合性を議論し、高温側での実験結果と理論モデル間の不一致はDNA間結合の融解に帰すると推論している。そこでFRETを利用してDNA間結合の融解現象を実際に定量し、リエントラントな接着現象がDNA間結合の融解に起因すると結論付けている。更に、平坦膜に接着した膜小胞の赤道面における揺らぎ解析から表面張力評価を行い、その温度応答性を明らかにしている。結果、接着した膜小胞は浮遊する膜小胞に対して大きい表面張力を示し、浮遊する膜小胞の表面張力は温度に対して負相関を示すが、接着した膜小胞の表面張力は温度非依存である事を明らかにしている。</p> <p>第5章で論文全体を纏め、得られた成果と今後の課題について述べている。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本論文は2種のゲスト分子を用いて、内外膜の非対称性や接着など生物学的条件や機能を模倣した脂質二重膜小胞を実験的に再構成し、その物性を明らかにしている。更に理論解析、数値計算も用いて包括的に現象を議論し、明快な結論を見出している。脂質二重膜小胞は生体膜のモデル系として広く調べられてきたものの、生物学的機能を有する機能性脂質二重膜小胞の物理学はほとんど明らかにされていない。本論文は非常に新規的かつ独創的な知見を報告しており、細胞膜が関与する生命現象を理解する上での重要な知見が得られている。

第3章では、マクロ相分離状態の膜小胞に外部から糖脂質を添加し、ストライプ相を準安定状態として経由するマクロ-ミクロ相分離の転移ダイナミクスを実験的に明らかにしている。更に、これらの転移現象を理論解析並びに実験によるパラメータの定量計測に基づく数値計算から再現し、転移現象が非対称な組成に起因する自発曲率によって駆動されると結論づけている。確認された3つの相はこれまでに他の研究で報告されているが、一連のパスとしてマクロ相とミクロ相の間にストライプ相があり、その転移現象が非対称な組成に起因する自発曲率によって駆動されるという報告はこれまでになく、新しい知見であるといえる。一様相からマクロ相への相分離ダイナミクスやミクロ相分離がマクロなものへと成長するダイナミクスは、多くの物質系での実験や理論において盛んに研究されてきたが、マクロ相分離からミクロ相分離への転移ダイナミクスはこれまでに適切な実験系や理論モデルも無く未開拓であった。本研究はそれを初めて実験的に明らかにするものであり、重要な成果といえる。また膜内相分離現象は、生体膜における脂質ラフト構造の背後に在るメカニズムを理解する目的で長年研究されてきた。しかしながら、単純な二分子膜でみられるラフト様相分離構造と生体膜にあるとされる脂質ラフトのサイズが大きく異なる事は長年の未解決問題の一つであった。本研究の成果は、この未解決問題を細胞膜の脂質組成の非対称性に着眼する事で解決できる可能性を示しており、生物学の観点からも重要な意義がある。

第4章では、選択的接着分子である相補的短鎖DNAを用いて、平坦膜と巨大単層膜小胞間を接着し、脂質膜小胞が持つ物理量の定量評価とその温度応答性を実験的に明らかにし、実験結果と提案された理論モデルの整合性を議論している。DNAによる膜接着モデル系は、細胞接着を模倣する新規のモデル系であり、確立された実験プロトコル並びに得られた成果は新規性が高い。その中でも膜小胞の表面張力は、平坦膜と接着した場合に温度変化に対しても一定に保たれる事を見出しており、従来の研究で用いられてきた浮遊する膜小胞とは異なる結果を見出している。これは生体膜モデル系の物性評価における接着の重要性を示す成果であり、今後の研究への波及効果が期待される。

このように本論文は、ゲスト分子を導入した脂質二重膜小胞の実験的、理論的な研究を通じて、生体膜を物理学的に理解する事に成功している。

以上により総合的に判断し、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成27年12月25日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、(平成〇年〇月〇日までの間)当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日： 2016 年 3 月 23 日以降

